

Maisons-Alfort, le 4 octobre 2012

LE DIRECTEUR GENERAL

AVIS

de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail relatif à la demande d'homologation de la matière fertilisante OZOR, à base de *Glomus* et d'extrait d'algue, de la société IF TECH

L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses) a notamment pour mission l'évaluation des dossiers de matières fertilisantes et supports de culture.
Les avis formulés par l'Agence comprennent :
- *l'évaluation des risques sanitaires que l'utilisation de ces produits peut présenter pour l'homme, l'animal ou l'environnement ;*
- *l'évaluation de leur efficacité sur les végétaux ainsi que celle de leurs autres bénéfices éventuels ;*
- *une synthèse de ces évaluations assortie de recommandations portant notamment sur leurs conditions d'emploi.*

PRESENTATION DE LA DEMANDE

L'Agence a accusé réception d'une demande d'homologation au titre des matières fertilisantes du produit OZOR de la société If Tech, pour laquelle, conformément à l'article R.255-1-1 du Code rural et de la pêche maritime, l'avis de l'Anses est requis.

Le pétitionnaire déclare que le produit OZOR est commercialisé en Italie en tant qu'« inoculum de champignon mycorhizien » entrant dans la catégorie « produit à action spécifique, produit à action sur le sol », conformément à la norme italienne en vigueur sur les fertilisants (décret législatif n° 75/2010 du 29 avril 2010). La société If Tech est inscrite au « Registre des fabricants de fertilisants » attaché à la Direction générale du développement rural, des infrastructures et des services du Ministère Italien des politiques agricoles alimentaires et forestières. Le pétitionnaire présente sa demande dans le cadre de l'alinéa 3 de l'article R.255-1-1 du Code rural et de la pêche maritime. Néanmoins, aucun document relatif à l'évaluation du produit préalablement à sa mise sur le marché dans l'Etat membre d'origine n'a été communiqué à l'Anses.

Le présent avis porte sur le produit OZOR à base de *Glomus intraradices* et d'un extrait d'algue, destiné à la symbiose endomycorhizienne.

Cet avis est uniquement fondé sur l'évaluation par l'Agence du dossier déposé à l'Anses, par le pétitionnaire, pour cette préparation microbienne, conformément aux exigences du Code rural et de la pêche maritime, de l'arrêté du 21 décembre 1998 et du guide pour l'homologation des Matières Fertilisantes et Supports de Culture (document cerfa 50644#01) et sous réserve de l'utilisation du produit dans le respect des bonnes pratiques agricoles (BPA).

SYNTHESE DE L'EVALUATION

Les données prises en compte sont celles qui ont été jugées valides par l'Anses. L'avis présente une synthèse des éléments scientifiques essentiels qui conduisent aux recommandations émises par l'Agence et n'a pas pour objet de retracer de façon exhaustive les travaux d'évaluation menés par l'Agence.

Après consultation du Comité d'experts spécialisé "Matières Fertilisantes et Supports de Culture", réuni le 11 septembre 2012, l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail émet l'avis suivant.

CONSIDERANT L'IDENTITE DU PRODUIT

Le produit OZOR est obtenu à partir d'un extrait d'algue soluble (*Ascophyllum nodosum*) et de propagules de *Glomus intraradices*, souche CMCCROC7. Il se présente sous forme de poudre contenant, au minimum, 500 propagules par gramme.
L'effet revendiqué par le pétitionnaire concerne la mise en place d'une symbiose mycorhizienne dans les racines des plantes à mycorhizes à arbuscules.
Ce produit est proposé pour une utilisation en mélange dans les supports de culture ou en apport au sol localisé ou en plein aux stades plantation, semis, bouturage, acclimatation, repiquage ou rempotage. Le produit peut également s'appliquer en pulvérisation et en enrobage de semences.

Usages et conditions d'emploi du produit demandés :

Cultures		Dose par apport	Nombre de propagules par ha	Nombre d'apports par an	Epoques d'apport
Plantes à mycorhizes à arbuscules	Hors-sol	0,3 kg.m^{-3}	7,5.10^{7}	1	Multiplication Rempotage
	Pleine terre	3,5 à 4,5 kg.ha^{-1}	1,7 à 2,2.10^{6}		Semis Plantation Aération
	Enrobage de semences	3 g par kg de semences	4,5.10^{5}		Semis

La dose maximale d'apport prise en compte pour l'évaluation de l'innocuité du produit est de 4,5 kg par hectare et par an.

CONSIDERANT LE MODE DE FABRICATION DU PRODUIT ET LA QUALITE DE LA PRODUCTION

Caractérisation du produit et procédé de fabrication

Les spécifications du produit telles que décrites sur le formulaire cerfa 11385 (arrêté du 21/12/98, annexe I) et la fiche d'information permettent de caractériser ce produit, excepté au niveau de sa répartition granulométrique. Par ailleurs, aucune donnée analytique ne permet de vérifier et de confirmer l'identité du champignon au niveau de l'espèce et de la souche. En outre, aucune indication sur l'origine de la souche CMCCROC7 n'a été communiquée.

Le produit OZOR est élaboré par le mélange des matières premières. Chaque lot de commercialisation correspond à 650 g.
Le système de management de la qualité de la fabrication est décrit de manière partielle. La gestion des non-conformités n'est pas décrite.

Les attestations croisées de fourniture et d'approvisionnement ne sont pas présentées de manière exhaustive pour ce qui concerne les sources de matières premières pour lesquelles ces documents sont requis.

Le procédé de fabrication ne conduit pas à identifier de dangers éventuels autres que ceux inhérents aux matières premières utilisées.

Constance de composition du produit

L'argumentaire proposé par le pétitionnaire pour justifier l'absence d'étude d'homogénéité du produit peut être considéré comme acceptable.
La méthode de dénombrement MPN[1] mise en œuvre pour l'étude de l'invariance et de la stabilité du produit, bien que la seule reconnue scientifiquement pour estimer le nombre de propagules infectieux mycorhiziens, est peu informative dans les conditions expérimentales de réalisation des études. En effet, elle ne permet pas de déterminer avec précision la teneur en propagules de *Glomus* dans les échantillons analysés. Aussi, les lots non-conformes sur ce critère devraient donc être déclassés. Par ailleurs, compte-tenu de la grande incertitude des mesures, la stabilité du produit est difficile à apprécier. Néanmoins, le pétitionnaire déclare que le produit OZOR, conservé à température modérée (10 - 20°C) dans son emballage d'origine, dans un local sec et à l'abri de la lumière, reste stable sur une période de un an.

Méthodes d'échantillonnage et d'analyse

Les méthodes d'échantillonnage ne sont pas décrites mais ne présentent pas d'enjeu important dans le cas des cultures microbiennes.

L'analyse de caractérisation du produit OZOR a été effectuée par un laboratoire externe accrédité COFRAC[2] sur le programme 108.

La précision de la technique méthode de dénombrement MPN nécessiterait d'être améliorée en réalisant des dilutions successives de l'inoculum plus fines et/ou en augmentant le nombre de répétitions.

Il est rappelé que, aux écarts admissibles près, la conformité de chaque unité de commercialisation du produit aux teneurs garanties sur l'étiquette est requise, et que ces écarts admissibles ne peuvent pas être exploités de manière systématique.

CONSIDERANT LES INFORMATIONS RELATIVES A L'INNOCUITE DU PRODUIT

Matières premières et procédé de fabrication

L'espèce *Glomus intraradices* n'est pas considérée comme pathogène pour l'homme ou l'animal. Cette espèce est habituellement présente dans les sols agricoles et présente une spécificité d'hôte pour les végétaux. Le pétitionnaire signale que *Glomus intraradices* est un symbiote strict, incapable de se développer sans établir une symbiose avec les racines d'une plante et que la souche n'a pas d'activité saprophytique ce qui rend toute pathogénicité ou parasitisme pour les animaux ou les microorganismes impossible. Le pétitionnaire indique que la dissémination du champignon est faible et que, sans la présence de la plante hôte, la persistance des différentes souches dans les sols est limitée. Par ailleurs, l'OCDE[3] précise que les champignons endomycorhizogènes n'entrainent aucun risque pathogène évident vis-à-vis des animaux et des êtres humains (Rapport relatif à la sécurité en biotechnologie concernant les micro-organismes utilisés comme biofertilisants, 1995). Enfin, aucune étude disponible dans la littérature ne révèle la production de toxine par la souche *Glomus intraradices*. Cependant, l'origine de la souche utilisée ainsi que les données analytiques permettant de vérifier et de confirmer l'identité du microorganisme au niveau de l'espèce et de la souche, manquent pour pouvoir conclure quant à l'innocuité du produit.

[1] MPN = Most Probable Number
[2] COFRAC = COmité FRançais d'ACcréditation
[3] OCDE = Organisation de Coopération et de Développement Économiques

Les éléments communiqués dans la fiche technique de l'extrait d'algue ne précisent pas l'origine géographique des algues et ne permettent pas de s'assurer que celles-ci sont indemnes de toute contamination, notamment par des hydrocarbures. Aucune fiche de donnée de sécurité n'a été communiquée pour cette matière première.

Etude toxicologique du produit fini

Les teneurs en éléments traces métalliques (As, Cd, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb, Se, Zn) ainsi que celles des paramètres microbiologiques permettent de respecter les critères d'innocuité pour l'homologation des matières fertilisantes. Néanmoins, les *Listeria monocytogenes* n'ont pas été recherchées. Cependant, au vu des résultats d'analyse sur les autres microorganismes, et compte tenu de la nature du produit et de son pH, cette analyse n'est pas jugée nécessaire.
Les teneurs en composés traces organiques (fluoranthène, benzo(a)pyrène, benzo(b)fluoranthène et 7 PCB[4]) n'ont pas été mesurées. Leur recherche permettrait toutefois de vérifier l'absence de contamination des algues par des hydrocarbures.

Aucune donnée toxicologique expérimentale n'a été communiquée sur le produit OZOR.
Sur la base des éléments disponibles, le produit OZOR ne nécessite aucune classification toxicologique. Néanmoins, compte tenu du pH, de la nature physique et microbienne du produit, le port de gants appropriés, de vêtements de protection et d'un masque anti-aérosol de classe FFP3 s'impose. Par ailleurs, la phrase « contient *Glomus intraradices*. Les microorganismes peuvent provoquer des réactions de sensibilisation », devrait apparaître sur l'étiquetage.

Résidus et sécurité du consommateur

Les éléments requis dans les dossiers de demande d'homologation des matières fertilisantes et supports de culture permettent de conduire une évaluation *a priori* pour le consommateur, uniquement pour les contaminants pour lesquels des valeurs de référence ont été déterminées. Ces valeurs de référence pourraient elles-mêmes évoluer à la lumière de données méthodologiques, techniques, scientifiques et réglementaires récentes.

Devenir dans l'environnement et écotoxicité du produit fini

Aucune donnée écotoxicologique expérimentale relative à la toxicité vis-à-vis des organismes terrestres et aquatiques de la souche ou du produit fini n'a été communiquée. De plus, aucune information sur la persistance de cette souche dans l'eau n'a été soumise.

Le pétitionnaire indique que la souche de *Glomus intraradices* (souche CMCCROC7) est naturellement présente dans les sols. La biotrophie obligatoire de ces micro-organismes ne leur permet pas de se développer ailleurs que sur des racines de plantes hôtes. Par conséquent, la dissémination dans l'environnement de ces champignons endomycorhizogènes est faible.

Enfin, aucune donnée n'étant disponible, il n'est pas possible d'établir le classement du produit OZOR vis-à-vis de l'environnement. Cependant, pour l'espèce *Glomus intraradices* présente dans certains sols et connue pour être symbiote de plantes hôtes, il n'est pas attendu de risque pour l'environnement.

CONSIDERANT LES INFORMATIONS RELATIVES A L'EFFICACITE DU PRODUIT

Caractéristiques biologiques du produit

Effet revendiqué

L'effet principal revendiqué est l'établissement d'une symbiose mycorhizienne dans les racines des plantes à mycorhizes à arbuscules. Cette revendication est notamment basée sur la nature des éléments de composition du produit (inoculum de *Glomus*). Par ailleurs, le pétitionnaire

[4] PCB = Polychlorobiphényles

présente à l'appui de cette revendication 3 essais réalisés dans les conditions d'emploi préconisées sur poireau, gazon et pépinière.

Mode d'action et éléments relatifs à l'efficacité intrinsèque

Le pétitionnaire a réalisé une synthèse bibliographique pertinente relative à la symbiose entre les mycorhizes et les racines des plantes. Bien que la souche *Glomus intraradices* CMCCROC7 constituant le produit OZOR ne soit pas spécifiquement citée, les publications scientifiques communiquées dans le dossier biologique démontrent l'efficacité potentielle et/ou pratique de la symbiose mycorhizienne dans les racines des plantes.
L'existence de la symbiose est gouvernée par des échanges nutritionnels entre l'hôte, apportant des sucres, et le champignon, fournissant des minéraux peu mobiles tels que le phosphore. Ces échanges ont lieu essentiellement dans les arbuscules et au niveau de la membrane plasmique de certaines cellules corticales de l'hôte. Le champignon stocke le phosphore dans ses vacuoles sous forme de granules de polyphosphates. La présence du *Glomus* dans les racines stimule également l'absorption des oligoéléments et de l'eau.

Essais d'efficacité en conditions d'emploi préconisées

L'ensemble des essais a été réalisé avec les produits de la gamme professionnelle, présentant notamment une richesse en propagules de *Glomus intraradices* supérieure à celle du produit OZOR.

Poireau
L'essai sur poireau a été mené en France en 2010 avec le produit référencé OZOR PRO.
A la récolte, la modalité OZOR PRO, appliquée par trempage, a, par rapport au témoin, un effet significatif bénéfique sur le poids des racines (+ 15%). En revanche la présence de mycorhize ne modifie pas significativement le poids moyen total du poireau (+ 16%) ni le rendement par hectare (+ 16%).
Les analyses des faisceaux racinaires montrent une présence assez significative de mycorhize pour les poireaux de la modalité OZOR PRO dans 2 des 3 parcelles élémentaires. Le mode d'apport par trempage favoriserait une localisation orientée des propagules de champignon au niveau des racines.

Gazon
L'objectif de cet essai est de mesurer l'effet du produit OZOR ajouté à l'enrobage des semences de gazon (Ray-grass, fétuque rouge). Le produit testé est le produit référencé « Mycorhiza ». Sa composition n'est pas renseignée et aucun élément ne permet de s'assurer que ce produit est équivalent au produit OZOR. En outre, le compte rendu d'essai n'est ni finalisé ni daté et le site d'expérimentation n'est pas indiqué.

Pépinière
L'essai, mené en France en 2011, a pour objectif de mesurer l'intérêt de l'apport de différents microorganismes associés à différentes fertilisations pour la culture de deux plantes, *Ribes sanguineum* Pulborought Scarlet (groseillier à fleur) et *Lavendula x intermedia* (Dutch) (lavande), en pépinière hors-sol, dans le cadre de la mise au point de substrats avec fertilisation organique.
Le produit testé est le produit référencé OZOR PRO.
Sur *Ribes*, les résultats révèlent, à fertilisation égale, un effet favorable, mais non significatif d'OZOR PRO sur la croissance. Aucune observation microscopique n'a été réalisée sur les racines. Cependant, l'essai ne peut être considéré comme valide : 10 à 60% des plantes sont mortes au cours de l'étude.
Sur *Lavandula*, l'effet d'OZOR PRO sur la croissance est peu marqué. L'apport d'OZOR PRO a, toutefois, une incidence positive sur la mycorhization des racines des plantes de lavande.

Conclusions sur le mode d'emploi du produit

Le mode d'emploi indiqué est suffisant pour permettre une bonne utilisation du produit OZOR dans le substrat des cultures hors-sol, mais est insuffisant pour les cultures de pleine terre.

La teneur en champignon endomycorhizien à arbuscule (inoculum de *Glomus*) constitue un paramètre à déclarer sur l'étiquette.

Revendication et dénomination de classe et de type retenues

La revendication présentée par le pétitionnaire relative à la mise en place d'une symbiose mycorhizienne dans les racines des plantes à mycorhizes à arbuscules peut être considérée comme soutenue pour les cultures hors-sol.
La dénomination de classe et de type proposée est la suivante : « Champignon endomycorhizien à arbuscule (inoculum de *Glomus*) ».

CONCLUSIONS

En se fondant sur les données soumises par le pétitionnaire et évaluées dans le cadre de cette demande, ainsi que sur l'ensemble des éléments dont elle a eu connaissance, l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail estime que :

A. La caractérisation du produit OZOR n'est pas considérée comme satisfaisante. En effet, aucun élément du dossier ne permet de vérifier et de confirmer l'identité du champignon au niveau de l'espèce et de la souche. En outre, aucune indication sur l'origine de la souche CMCCROC7 n'a été communiquée.
Par ailleurs, la constance de composition du produit n'a pas été démontrée de manière totalement satisfaisante.

B. L'innocuité du produit OZOR pour les usages demandés est considérée comme conforme aux exigences réglementaires. Néanmoins, aucune analyse de caractérisation de la souche présente dans le produit n'ayant été communiquée et en l'absence de données expérimentales toxicologiques et écotoxicologiques, il n'est pas possible de conclure à l'absence d'effet néfaste lié au microorganisme sur l'homme, l'animal et l'environnement.

C. La démonstration de l'efficacité potentielle du produit OZOR est établie, notamment par les données de la littérature scientifique. Cependant, les essais mis en œuvre ne sont pas totalement satisfaisants et ont été réalisés sur les produits de la gamme professionnelle dont les compositions sont différentes du produit OZOR (ils sont notamment plus riches en *Glomus*).

L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail considère que les éléments disponibles sont insuffisants pour confirmer l'innocuité du produit OZOR. Par ailleurs, le délai d'instruction de la demande présentée dans le cadre de l'alinéa 3 de l'article R.255-1-1 du Code rural et de la pêche maritime, ne lui permet pas d'obtenir du pétitionnaire des informations complémentaires. En conséquence, l'Agence ne peut finaliser l'évaluation de la demande d'homologation du produit OZOR.

Marc MORTUREUX

Mots-clés : OZOR - *Glomus intraradices* - extrait d'algue *Ascophyllum nodosum* - champignon endomycorhizien - mycorhizes à arbuscules